

5 Diskussion

Anhand der vorliegenden Arbeit wurde erstmals in Deutschland eine grössere Taubenpopulation auf das Vorhandensein von Shigatoxin-bildenden *E. coli* (STEC) untersucht. Die Taubenpopulationen wurden aufgrund der für die Epidemiologie und Risikoeinschätzung wichtigen unterschiedlichen Haltungs- und Lebensformen in drei Gruppen (Brief-, Rasse- und verwilderte Haustauben) unterteilt. Brieftauben weisen sowohl engen Kontakt zu ihren Haltern, als auch zu anderen Tauben während der Wettflüge und im Kabinenexpress und zu Wildvögeln (Trainingsflüge, Freiflug) auf. Im Gegensatz dazu erhalten Rassetauben selten Freiflug. Kontakt mit Tauben aus anderen Beständen besteht nur während der Ausstellungssaison im Spätjahr. Die Beziehung zu ihrem Halter ist jedoch ebenfalls sehr eng (Kropfaufblasen, etc.). Die als sogenannte Stadtauben bezeichneten verwilderten Haustauben haben wenig direkten Kontakt zu Menschen, halten sich aber aufgrund der Nahrungssuche in ihrer Nähe auf. So finden sich größere Gruppen von Stadtauben in Städten immer an Punkten mit viel Publikumsverkehr (Kirchplätze, Märkte, Fußgängerzonen, etc.) und in der Nähe von Lebensmittelverarbeitenden Betrieben, z.B. sind Schlachthöfe, Imbissstuben, Stehcafes und Marktstände ebenfalls an diesen Orten angesiedelt, so dass eine Gefahr der sekundären Kontamination von Lebensmitteln durch Stadtauben gegeben ist.

Welche Shigatoxine werden von Tauben beherbergt und wie ist das dadurch hervorgerufene Gefährdungspotential einzuschätzen?

In der vorliegenden Arbeit sollte das Vorhandensein der Shigatoxin-Gene *stx1*, *stx2* und *stx2e* im Taubenkot nachgewiesen werden. Der Nachweis von *stx1* und *stx2* diene als Grundlage für die Einschätzung der Rolle der Tauben im Zusammenhang im humanen STEC-Infektionen. *Stx2e* wurde aufgrund einer möglichen Vektorenrolle der Taube im Zusammenhang mit der Ödemkrankheit der Ferkel ausgewählt. Dabei wurde zunächst ein Screening auf die Shigatoxin-Gene *stx1*, *stx2* und *stx2e* mittels Polymerase-Kettenreaktion und anschließender DNA-DNA-Hybridisierung zur Erhöhung der Sensitivität und Überprüfung der PCR-Signale durchgeführt. Um die Ergebnisse zu verifizieren wurden alle Amplifikate sequenziert und die Ergebnisse mit der EMBL-Datenbank verglichen. Diese erbrachten den Beleg, dass die PCR-Produkte den entsprechenden Abschnitten auf dem *stx* zuordnen waren. Zu Beginn der praktischen Durchführung dieser Arbeit war die *stx2*-Variante *stx2f* noch nicht bekannt, die bis jetzt nur im Kot von Stadtauben nachgewiesen und im Jahr 2000 von SCHMIDT et al. veröffentlicht wurde. Es gab jedoch Schwierigkeiten STEC-Stämme von

Kolonie-Blots mit *E. coli* aus Sammelkotproben zu isolieren, bei denen im Screening *stx2e* nachweisbar war. Die DNA-DNA-Hybridisierung mit der Sonde für *stx2e* ergab keine eindeutigen Ergebnisse. Daraufhin wurde mit den freundlicherweise vor der Veröffentlichung überlassenen Oligonukleotiden für *stx2f* die vermeintlich *stx2e*-tragenden *E. coli* mittels Polymerase-Kettenreaktion auf das Vorhandensein von *stx2f* überprüft. Alle zuvor als *stx2e*-tragenden angesprochenen STEC konnten einwandfrei als *stx2f*-positive STEC identifiziert werden. Die Oligonukleotide (*stx2for* und *-rev.*), die für die Herstellung der *stx2e*-DNA-Sonde für die Kolonie- bzw. Replika-Blots verwendet wurden, wurden aufgrund der Länge ihres Amplifikates ausgewählt. Diese Oligonukleotide sind nicht identisch mit denen, die im Screening auf *stx2e* für die Polymerase-Kettenreaktion und die DNA-DNA-Hybridisierung des Southern-Blots (116 *for* und *-rev*) verwendet worden sind. Das Amplifikat der Oligonukleotide 116*for* und 116*rev* erbrachte im Datenvergleich mit der EMBL-Genbank eine 98% Übereinstimmung mit der A-Untereinheit des *stxIIva* und eine 98% Übereinstimmung mit der Variante *stx2e*. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass nicht wie ursprünglich gedacht *stx2e*, sondern *stxIIva* amplifiziert wurde. SCHMIDT et al. (2000) beschreiben in der Erstveröffentlichung der Variante *stx2f* eine 99,8% bzw. 100% Ähnlichkeit zu der A- bzw. B-Untereinheit der Variante *stxIIva* des *E. coli* O128:B12, der von GANNON et al. (1990) erstmals beschrieben wurde. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden die zuvor als *stx2e*-positiven Sammelkotproben nun als *stx2f*-positiv bezeichnet. Weitere Untersuchungen der zuvor als *stx2e*-positiven Sammelkotproben wurden daraufhin mit den Oligonukleotiden für *stx2f* bzw. daraus hergestellten Sonden durchgeführt.

Die Prävalenzen für Shigatoxin-Gene in den untersuchten Taubensammelkotproben konnten mit 34% für *stx1*, 9% für *stx2* und 37% *stx2f* mittels PCR und DNA-DNA-Hybridisierung angegeben werden. *Stx2* konnte lediglich mit der DNA-DNA-Hybridisierung nachgewiesen werden, die mit den Southernblots der PCR-Produkte zur Detektion von *stx2* durchgeführt wurden. Die zunächst angewandte Kolonie-Blot-Technik zur Isolierung von STEC aus den mit Taubenkot versetzten mTBS-Originalbouillons, die im Polymerase-Kettenreaktion-Screening positiv für ein oder mehrere *stx* waren, führte nicht zu den erwarteten Ergebnissen. Pro zu untersuchenden Kotprobe wurden 20 CFU von einer zuvor mit der Originalbouillon beimpften MacConkey-Agarplatte auf eine LB-Agarplatte mit Membran verbracht. Mit dieser Technik konnte aus 45 *stx1*-positiven Sammelkotproben mit 900 CFU nur vier STEC-Isolate dedektiert werden. KARCH et al. (1992) beschreiben einen häufigen Verlust der *stx*-Gene durch Subkultivierung der STEC. Um die Effektivität der STEC-Isolierung aus den Sammelkotproben zu erhöhen und um einen Subkultivierungsschritt verringert, wurde die Replikatechnik angewandt. Sie erlaubt bei relativ geringem Arbeitsaufwand pro zu untersuchender Sammelkotprobe ca. 200 coliforme Keime mittels DNA-Sonde und DNA-DNA-Hybridisierung zu untersuchen. Allerdings muss die Wiederfindungsmethode der als STEC identifizierten CFU auf

der Originalplatte technisch noch stark verbessert werden. 49 positive Signale konnten auf 11 Röntgenfilme nach der *stx2f*-DNA-DNA-Hybridisierung entdeckt werden, die Wiederfindungsrate der CFU auf der Replikplatte betrug jedoch nur 22,9%. Bei verbesserter Wiederfindungsrate ist diese Methode eine gute Möglichkeit nach einem Screening auf die Shigatoxin-Typen mittels Polymerase-Kettenreaktion oder Enzym-linked-Immuno-Assay (ELISA) STEC zu isolieren, da eine hohe Anzahl CFU pro Probe untersucht werden kann. Zusätzlich wird gegenüber der Kolonieblottechnik ein Subkultivierungsschritt weniger benötigt, so dass die Gefahr eines *stx*-Verlust geringer wird.

Die Bedeutung der Prävalenz von 37% *stx2f* positiver Sammelkotproben für humane Erkrankungen aufgrund des Toxinsubtyps zur Zeit als eher gering einzuschätzen. So berichten FRIEDRICH et al. (2002) in einer Studie über den Zusammenhang von Shigatoxin-Gen 2 Varianten und der Schwere der klinischen Erkrankung, dass in keinem humanen STEC *stx2f* nachweisbar war, weder bei Patienten mit HUS, noch bei Diarrhoe bzw. bei symptomlosen Ausscheidern. SCHMIDT et al. (2000) geben an, dass bis jetzt nur ein humaner STEC isoliert werden konnte, der eine *stx2*-Variante mit einer über 99% Ähnlichkeit zu *stx2f* besass. Diese Forschungsergebnisse scheinen auf eine Wirtsspezifität der Stx2f-Toxine für Tauben hinzudeuten. Möglicherweise verhält es sich mit der *stx2f*-Variante ähnlich wie mit dem Serovar *S. typhimurium* O5:-, das vor allem aus Tauben isoliert wird und nur selten beim Menschen eine Erkrankung hervorruft. Auch die Verteilung der Toxintypen in den verschiedenen Habitaten kann in Richtung einer Wirtsspezifität interpretiert werden. In der Gruppe der verwilderten Haustauben mit dem geringsten Kontakt zu Menschen beherbergen 76% der untersuchten Kotproben das *stx2f*-Gen. Im Gegensatz dazu sind in der Gruppe der Brief- als auch bei den Rassetauben nur 33,2 bzw. 25,7% der untersuchten Proben *stx2f*-positiv. Diese Haltungsformen, die einen engen Kontakt mit Menschen erfordern, weisen zu 45,6% (Brieftauben) bzw. 15,1% (Rassetauben) *stx1* und zu 3,2% (Brieftauben) bzw. 27% (Rassetauben) *stx2* auf. Um die Vermutung der Wirtsspezifität des *stx2f* zu verfolgen, müssen allerdings noch weiterführende Untersuchungen erfolgen. Dazu wäre nach Ansicht der Autorin vor allem das Umfeld von mit STEC infizierten Personen bzw. die Taubenhalter ein geeignetes Forschungsgebiet. Da noch keine Erkenntnisse darüber vorliegen, ob *stx2f* auf einem Phagen codiert ist, kann hier nur spekuliert werden. Wie bei *stx2e* lässt die Beschränkung auf einen Wirt vermuten, daß *stx2f* chromosomal codiert sein könnte. Arbeiten auf diesem Gebiet werden einen wichtigen Hinweis auf die mögliche Wirtsspezifität der *stx2f*-Variante ergeben.

Wenn Shigatoxin-Subtypen zur Risikoabschätzung herangezogen werden, ist weiterhin zu beachten, dass EHEC O157:H7, welche die Fähigkeit besitzen Stx2 zu bilden, bei der Entstehung von HUS eine größere Rolle spielen als EHEC, die nur Stx1 produzieren (TESH, 1993). Auch wurde eine Korrelation zwischen dem Vorhandensein von *stx2* und der Schwere der Erkrankung nachgewiesen (BOERLIN et al., 1999). Die *stx2*-Prävalenz von nur 9, % in den 366 untersuchten Sammelkotproben von Tauben ist ein Hinweis dafür, dass das Risiko an durch Tauben übertragenen STEC an HUS zu erkranken für den Menschen als relativ gering zu beurteilen ist. FRIEDRICH et al. (2002) konnten zeigen, dass bei einer STEC-Infektion mit dem Genotyp *stx2* das Risiko an HUS zu erkranken, signifikant höher ist als bei einer Infektion mit einem STEC, der den Genotyp *stx1* aufweist. STEC, die *stx1* tragen, lösen bei 42,3% der Patienten Diarrhoe auslösen bzw. werden zu 46,8% von asymptomatischen Ausscheidern beherbergt werden. Beide Toxintypen waren vor allem in den Haltungsformen vertreten, die einen engen Kontakt zu Menschen haben, so dass das Risiko für eine *stx1* vermittelte humane STEC-Infektion oder –Erkrankung bei einer Prävalenzrate von 34% in Taubenkotproben nicht auszuschließen ist.

SCHMIDT et al. (1999) stellten fest, dass von non-O157-STECS, die beim Menschen HUS ausgelöst haben, ausschließlich Stx1 gebildet wird. Die non-O157 STECS werden aus Tieren und denen von ihnen gewonnenen Lebensmitteln häufiger isoliert als STEC O157 (BEUTIN et al., 1998). Um diese Aussage in Zusammenhang mit den hier gefundenen Daten zu interpretieren, fehlen Untersuchungen zur Serovarverteilung der STECS.

Wie hoch ist die Virulenz der aus Tauben isolierten STEC einzuschätzen?

Um diesen Punkt einschätzen zu können wurde versucht, die Virulenzfaktoren *eae* und *hly_E* nachzuweisen und die *stx*-Prävalenz der Taubenkotproben mit den Prävalenzraten der im Schrifttum aufgeführten bei Tauben nachgewiesenen Zooanthroponoseerreger verglichen.

90,48% der in der vorliegenden Untersuchung aus gesunden Tauben isolierten *stx2f*-positiven STECS und 66,6% der *stx1*-positiven STECS besitzen das Gen *eae*. Vermutlich verfügen diese Stämme über die gesamte Pathogenitätsinsel LEE, was aber noch durch weitere Untersuchungen bewiesen werden muss. In vielen Studien wird jedoch davon ausgegangen, dass *eae*-positive *E. coli*-Stämme höchstwahrscheinlich auch den Rest der auf LEE codierten Gene enthalten. So besitzen alle STEC O157:H7 Serotypen sowohl *eae* als auch den Rest der Pathogenitätsinsel LEE. Die meisten Non-O157 STECS, die bei humanen Erkrankungen isoliert wurden, enthalten ebenfalls den LEE (KAPER et al., 1998). BOCKEMÜHL et

al. (1995, 1997) weisen in ihren Untersuchungen über HUS-Fälle in Deutschland nach, dass bei 94% der in den Jahren 1994/1995, bzw. 87% der im Jahr 1996 isolierten EHEC Stämme das *eae* Gen besitzen. Auch in einer kanadischen Studie wird auf die Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von *eae* und *stx2* und der Schwere der Erkrankung des Menschen hingewiesen (BOERLIN et al., 1999). BEUTIN et al. (1998) berichten in einer Studie über Infektionen des Menschen in Deutschland mit Non-O157 STEC über eine starke Korrelation des *eae* mit der Schwere der Erkrankung und der Altersgruppe bis sechs Jahre. So konnten bei 81% der Patienten mit blutigem Durchfall *eae*-positiven STEC nachgewiesen werden. Von den Patienten waren 75,9% jünger als sechs Jahre. Dagegen wurden in einer französischen Untersuchung bei sechs Non-O157 STEC, die aus dem Stuhl von adulten HUS-Patienten isoliert wurden, kein *eae*-Gen nachgewiesen (PRADEL et al., 2000). BEUTIN et al. (1995) gehen davon aus, dass STEC Stämme, die aus Tieren isoliert wurden, weniger virulent für den Menschen sind als solche humanen Ursprungs. Sie konnten in 208 untersuchten Proben von sieben verschiedenen gesunden Tierarten nur in 1,4% der STEC das *eae* nachweisen. Das steht im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Arbeit, in der 85% der STEC *eae*-positiv sind, welche ausschließlich von Tauben gewonnen wurden. Aufgrund der vorgelegten Untersuchungen ist anzunehmen, dass die *eae*-positiven STEC Taubenstämme grundsätzlich als humanpathogen anzusehen sind. Das Vorhandensein des *eae* muss in der Kombination der Shigatoxin-Subtypen interpretiert werden. Wie oben aufgezeigt, konnte bis jetzt noch kein *stx2f* bei humanen STEC-Isolaten nachgewiesen werden (FRIEDRICHS et al., 2002). Die Kombination von *stx1* und *eae* kann nachweislich humane Infektionen und auch Erkrankungen hervorrufen, so dass der *eae*-Prozentsatz von 66,1% der untersuchten *stx1*-positiven STEC als potentielle Gefahr anzusehen ist. Demgegenüber steht die geringe Anzahl der untersuchten STEC (6 Isolate). Bei zwei an Diarrhoe erkrankten Einzeltieren (Brieftauben) konnten sowohl *stx1*- als auch *eae*-positive STEC nachgewiesen werden, so dass eine Bedeutung des *eae* in der Pathogenese der Taubenerkrankung nicht ausser Acht gelassen werden kann. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen von WIELER et al. (1996) überein, die zeigten, dass 70,1% der STEC, die von Kälbern mit neonataler Diarrhoe isoliert wurden, das *eae* aufweisen. Die Autoren gehen deshalb davon aus, dass die Anheftungsfaktoren auch bei einer bovinen STEC-Infektion einen wichtigen Pathogenitätsfaktor darstellen.

Als Enterohämolysin (*hly*_{EHEC}) wird ein Hämolysin bezeichnet, das nur auf Agar eine Hämolyse erzeugt, der gewaschene Schaferythrozyten enthält. Es wurde erstmals 1989 bei STEC beschrieben. Auf dem pO157 Plasmid codiert, fungiert es an Eukaryontenzellen als porenformendes Zytolysin. Es ist in fast allen O157:H7-Stämmen und in vielen nicht zu diesem Serotyp gehörenden Shigatoxin-bildenden *E. coli* vorhanden. Die Rolle des Enterohämolysin in der Pathogenese ist weiterhin unklar. Allerdings wird durch seine immunogene Eigen-

schaft eine aktive Rolle innerhalb der Pathogenese vermutet (KARCH et al., 1998; SCHMIDT et al. 1995). Ungefähr 90% der aus in Deutschland von Patienten isolierten STEC bilden Enterohämolysin, so dass diese Eigenschaft in der Diagnostik genutzt werden kann (BEUTIN et al. 1994). In dieser Arbeit konnte nur bei einem *stx1*-positiven STEC Stamm *hly*_{EHEC} nachgewiesen werden. Dieser STEC ist deshalb aufgrund der Kombination von *stx1* und *hly*_{EHEC} als potentiell humanpathogen einzuschätzen, da beide Eigenschaften zusammen bei Infektionen und Erkrankungen des Menschen nachgewiesen werden konnten (BEUTIN et al., 1994). Der Nachweis der Enterohämolysinbildung konnte von keinem der isolierten *stx2f*-positiven STEC erbracht werden. Somit scheint die Fähigkeit Enterohämolysin zu bilden, kein weiterer Virulenzfaktor für diese Gruppe zu sein.

Die in dieser Arbeit gezeigten hohe Prävalenzrate von insgesamt 67% *stx*-positiven Taubenkotproben lässt auf den ersten Blick eine recht hohe Wahrscheinlichkeit vermuten, dass sich Menschen an von Tauben ausgeschiedenen STEC infizieren. Vergleicht man die Prävalenzraten von den im Schrifttum besprochenen aviären Zooanthroponosen, für die Tauben als Erregerüberträger nachgewiesen wurden, so liegen deren Werte unter der *Stx*-Prävalenz für Tauben: *Salmonella* sp. zwischen 9 und 27%, *Campylobacter* sp. 4,2 bis 53%, *Listeria* sp. 0,65 bis 3,4%. Die Prävalenz von *Chlamydophila* sp. bei Tauben beträgt für 1999 20,38%, für 1998 werden bei den nicht spezifizierten Tauben Nachweisraten von 40% angegeben. Untersuchungen aus den 1960er Jahren zeigen, dass 10% der humanen Ornithosen auf Tauben zurückzuführen sind. Die Prävalenzrate von 45,6% für *stx1* und 3,2% für *stx2* bei Brieftauben und von 15,1% *stx1* und 27% *stx2* bei Rassetauben im Zusammenhang mit dem engen menschlichen Kontakt einerseits und der Möglichkeit der Aufnahme von STEC aus der Umwelt andererseits ist gefährlicher als die insgesamt höhere Prävalenzrate der Stadtauben einzuordnen, da diese in 76% der untersuchten Proben *stx2f* aufweisen, das bis jetzt aus noch keinem STEC humanen Ursprungs isoliert werden konnte und deren humane Virulenz noch nicht weiter erforscht worden ist. Auch die Kombination der Virulenzgene *stx1* und *eae* auf 66% der isolierten *Stx1* positiven *E. coli* und das Vorhandensein von *eae* auf 90% der *Stx2f* positiven *E. coli* weist auf eine Gefährdung des Menschen hin. Es muss beachtet werden, dass noch keine Untersuchungen über die Toxizität des *Stx2f* durchgeführt worden sind.

Eine klinische Erkrankung der Tauben durch STEC ist in der Literatur nicht beschrieben. In dieser Studie wurde von zwei an Diarrhoe erkrankten adulten Brieftauben STEC mit den Virulenzgenen *stx1* und *eae* isoliert. Aus einem weiteren an Enteritis erkranktem Tier konnten ein *stx1*-positiver STEC nachgewiesen werden. Die Tiere wurden auch auf das Vorhandensein von *Salmonella* spp. und Parasiten hin untersucht. Beides konnte nicht nachgewiesen werden. Prinzipiell deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass eine Erkrankung durch STEC möglich ist. Interessanterweise scheinen nicht die nur bei Tauben nachgewiesenen *stx2f*-

tragenden STEC für das Krankheitsgeschehen verantwortlich zu sein, sondern die sowohl beim Menschen als auch bei anderen Tieren (v.a. Rinder) vorkommenden *stx1*-positiven STEC. Um diese STEC-Infektion abzuklären, sind weiterführende Studien im Hinblick auf eine aviäre Erkrankung durch STEC nötig. Bisherige Studien über Septikämie-auslösende APEC (Aviäre Pathogene *Escherichia coli*) konnten keine *stx*-Gene als Virulenzfaktoren nachweisen (JANBEN et al., 2001; DHO-MOULIN und FAIRBROTHER, 1999).

Die dritte Fragestellung bezieht sich auf die Prävalenz der STEC in den untersuchten Taubenpopulationen im Vergleich zu anderen Studien bei Vögeln und Rindern als STEC-Reservoir sowie in Lebensmitteln tierischen Ursprungs.

Bereits 1985 zeigten BEERY et al., dass sich *E. coli* O157:H7 im Zäkum von gesunden Hühnern ansiedeln können. Deshalb sind grundsätzlich Hühner als eine Quelle für humane STEC/EHEC-Infektionen anzusehen. WASTLHUBER et al. (1998) dagegen konnten keine STEC von Wirtschaftsgeflügel und Psittaciden mittels Polymerase-Kettenreaktion nachweisen. Auch IRWIN et al. (1989) konnten bei Broilern in keinem von 500 Kloakentupfern STEC isolieren.

Wildvögel, hauptsächlich Seemöwen und Krähen, wurden erstmals von WALLACE et al. 1997 in Großbritannien auf das Vorhandensein von *E. coli* O157:H7 untersucht. Aus 1,9% des Untersuchungsmaterials konnten *E. coli* O157:H7 nachgewiesen werden. Davon stammte ca. ein Viertel der STEC aus der ländlichen Gegend. Die restlichen *E. coli* O157 wurden an der Küste isoliert. MAKINO et al. (2000) isolierten aus einer von 50 untersuchten Möwenkotproben aus der japanischen Hafenstadt Hokkaido einen STEC O136:H16 und einen STEC O153:H-. Da weder das Gen *eae* noch das Gen *hlyEHEC* nachgewiesen werden konnten, ist die humane Gefährdung eher als gering einzuschätzen. WADA et al. (1995) isolierten aus einer an Durchfall erkrankten Taube einen attaching-and-effacing-*E. coli*. In dieser Studie konnte erstmals bei zwei an Diarrhoe erkrankten Brieftauben STEC isoliert werden, die *stx1* und *eae* beherbergen. In einer Studie von DELL'ÓMO et al. (1998) über das Vorhandensein von STEC im Kot von Stadtauben in Rom wurden 160 Tiere untersucht. Aus 10% konnten STEC isoliert werden, deren Toxin mit Antikörpern gegen Stx2 zu neutralisieren war. Ein Stamm enthielt zusätzlich das *eae*. Die Autoren geben an, dass die untersuchten Tiere keine klinischen Symptome aufwiesen. Eine neuere Untersuchung aus Italien gibt die Prävalenz von *stx2f* in Taubenkotproben ebenfalls mit 10,8% an. Dabei wurden 649 Taubenkotproben von drei verschiedenen Plätzen in Rom untersucht. Die meisten isolierten Stämme trugen das Virulenzgen *eae*. Die Autoren geben an, dass 17,9 % der Jungtiere *stx* im Kot aufwiesen, im Gegensatz zu den adulten Tieren, bei welchen nur zu 8,2% *stx* nachweisbar war. Serologisch konnten sechs verschiedene Serogruppen diagnostiziert werden,

wobei O45, O18ab und O75 am häufigsten vertreten waren (MORABITO et al., 2001). Auch die Studie von SCHMIDT et al. (2000), in der Taubenkotproben von Stadtauben aus der Stadt Würzburg und deren Umgebung untersucht wurden, ergab eine Nachweisrate von 12,5% für Stx2f. Die Prävalenz für *stx2f* kann aufgrund der eigenen Untersuchungen mit 37% angegeben werden. *Stx1* aus Taubenkot konnte bisher nur in dieser Arbeit mit einer Prävalenz von 34% nachgewiesen werden. *Stx2* wurde in 9% der untersuchten Kotproben diagnostiziert. Dabei ist zu beachten, dass es sich bei den untersuchten Proben um Sammelkotproben handelte. Deshalb sind zum Teil aus einer Probe auch zwei verschiedene Toxintypen nachweisbar. Insgesamt konnten aus 67% der Proben ein oder mehrere *stx* nachgewiesen werden. Eine Unterscheidung in Altersgruppen war nicht möglich.

Die im Vergleich zu den drei bisher vorliegenden Untersuchungen zur Prävalenz von STEC in Taubenkot höheren Nachweisraten sind auch mit der angewandten Screeningmethode zu erklären. In dieser Arbeit wurden alle Kotproben sowohl mit der Polymerase-Kettenreaktion als auch der DNA-DNA-Hybridisierung untersucht, die eine Sensivitätssteigerung mit dem Faktor 10^2 ergibt. Bisherige Studien untersuchten verwilderte Haustauben in der Stadt bzw. im städtischen Umland. Betrachtet man jedoch die unterschiedlichen Herkünfte der hier untersuchten Proben, ergeben sich starke Abweichungen in der Verteilung der Shigatoxine. So ist in der Gruppe der Brieftauben, die einerseits einen engen menschlichen Kontakt mit ihrem Halter, andererseits aber auch vielfältigen Kontakt sowohl zu anderen Tauben (Flugwettkämpfe) als zu anderen Wildvögeln (Trainingsfreiflüge) haben, an erster Stelle *Stx1* mit einer Prävalenz von 45,6% zu nennen. *Stx2f* und *Stx2* folgen mit 33,2% bzw. 3,2%. Auch sind die Distanzen von mehreren hundert Kilometern, die von den Tieren in ganz Europa zurückgelegt werden, bei der Epidemiologie nicht ausser Acht zu lassen. Die Sparte der Rassetauben, die nur in der Ausstellungszeit (Herbst) Kontakt zu anderen Vögeln haben, zeigt ein recht ausgeglichenes Bild der Shigatoxinverteilung: *Stx2f* mit 25%, *Stx2* mit 27% und *Stx1* mit 12%. Unter den verwilderten Haustauben aus Göttingen und Kassel steht in Übereinstimmung mit oben genannten Studien *Stx2f* an erster Stelle, wobei die Prävalenz hier 76% beträgt. *Stx2* wurde in 16%, *Stx1* wurde nur in 2% der untersuchten Kotproben nachgewiesen. Es zeigt sich also, dass Tauben mit engem menschlichem Kontakt ein anderes Verteilungsmuster der Shigatoxine aufweisen als verwilderte Haustauben, die keinen direkten Bezug zum Menschen pflegen. Daraus ergibt sich wiederum die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen über die Wirtsspezifität des Toxintyp *Stx2f*. Auch scheinen die verwilderten Haustauben im Gegensatz zu den Brief- und Rassetauben ein geringeres Risiko für den Menschen sich mit STEC zu infizieren darzustellen.

Um die mögliche Rolle der Tauben in der Epidemiologie der STEC-Infektionen von Rindern zu beleuchten, wird deren Bedeutung im STEC-Geschehen kurz beschrieben. Rinder stellen das Hauptreservoir sowohl für STEC der Serogruppe O157, als auch der Non-O157 STEC dar (WELLS et al., 1991). Europäische Nachweisraten für Non-O157 STEC betragen zwischen 10,8 und 21,1%. Für STEC O157 wurde die Häufigkeit zwischen 0 und 0,8% angegeben. Die vor allem in Europa oft aus Patienten mit Diarrhoe isolierten Serogruppen O26, O103 und O111 konnten auch bei Rindern nachgewiesen werden (CAPRIOLI und TOZZI, 1998). Weltweit wurden STEC-Prävalenzen bei Rindern im Bereich von 3 bis 60% nachgewiesen, wobei der Anteil von STEC O157 kleiner als 3% war. STEC konnten von Kälbern öfter isoliert werden als von adulten Tieren. Gesunde Kälber waren zu 12% Träger von STEC. Der Anteil der an Durchfall erkrankten Kälber, von denen STEC isoliert werden konnte, beträgt 21,9%, wobei Stx1 bei klinisch kranken Tieren signifikant häufiger gefunden (17%) wurde als bei klinisch unauffälligen Kälbern. Die Autoren schließen daraus, dass Stx1 in der Pathogenese der neonatalen Diarrhoe eine wichtige Rolle spielt (WIELER et al., 1992). Kälber, die an neonataler Diarrhoe erkrankt sind, scheiden am häufigsten STEC O118 aus, der zu 85% Stx1 produziert (WIELER et al., 1998). Ebenso sind Milchviehherden höher kontaminiert als Mastbullenherden. Auch ist bei adulten Tieren die STEC-Nachweisrate von an Durchfall erkrankten Rindern höher als die von gesunden, wobei ebenfalls meist Stx1 produziert wird (DEAN-NYSTROM et al., 1998; SANDHU et al., 1996). Eine Langzeitstudie ergab eine intermittierende Ausscheidung von STEC O157:H7 mit einem saisonalen Höhepunkt in der warmen Jahreszeit vor allem Juni bis Oktober. Typischerweise beherbergen Rinder *E. coli* O157 über den Zeitraum von ca. zwei Monaten. Dauerausscheider konnten nicht identifiziert werden. Auch konnte kein Zusammenhang mit einer klinischen Erkrankung der Tiere nachgewiesen werden. Verschiedene Autoren vertreten die Meinung, dass STEC zu der physiologischen Darmflora von Rindern gehört, die über 50 verschiedene Serotypen beinhaltet, von denen sich die meisten als intermittierende Darmbewohner erwiesen haben. Auch konnte gezeigt werden, dass Jungtiere einer größeren Anzahl transienter *E. coli*-Serotypen beherbergen als adulte Tiere (HANCOCK et al., 1998; HINTON et al., 1985). Die hohe Stx1-Prävalenz der Brieftauben lässt vermuten, dass diese in der Epidemiologie der Rinder STEC eine Rolle spielen können. Durch die Wettflüge von z.T. mehreren hundert Kilometern quer durch Europa und die täglichen Übungsflüge während der Reisesaison sind sie als Vektor prädisponiert. Milchviehherden werden in den meisten Teilen Deutschlands im Sommer auf der Weide gehalten. Diese werden auch von geschwächten Brieftauben als Rast- und Futterplatz aufgesucht, so dass ein Überschneidungspunkt vorliegt. Um diese Vermutungen zu untermauern, sind aber vor allem im Bereich der Serotypisierung noch weitere Untersuchungen notwendig.

Tauben sammeln sich gerne in der Nähe von Lebensmittelverarbeitenden Betrieben und öffentlichen Plätzen, an denen Lebensmittel verkauft und verzehrt werden. Ihre Bedeutung in der Kontamination von Lebensmitteln mit STEC sollte deshalb nicht unbesprochen bleiben. Untersuchungen über die Prävalenz von STEC in Lebensmittel ergaben, dass die Kontamination mit STEC während des Schlacht- und Herstellungsprozesses eine große Rolle spielt. So konnte eine kanadische Studie STEC-Kontaminationsraten von 15 bis 40% des beprobten Rindfleisches nachweisen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen verschiedene Studien in England mit 17%, den USA mit 23-25% und den Niederlanden mit 16,1% (MENG und DOYLE, 1998). SAMADPOUR et al. (1994) untersuchten verschiedene Lebensmittel tierischer Herkunft. Dabei waren 63% des Kalbfleisches, 48% des Lammfleisches, 18% des Schweinefleisches, 12% der Hähnchen, 7% des Putenfleisches, sowie 10% des Fisches und 5% der Schalentiere mit STEC kontaminiert. Die mit 78% hohe STEC Prävalenzrate in der Gruppe der verwilderten Stadtauben lassen auf eine mögliche Gefahr der sekundären Kontamination von Lebensmittel durch diese Tiere schließen. Zumal verwilderte Tauben sich meist in der Nähe von belebten Plätzen, auf denen auch Lebensmittel verkauft werden, z.B. Imbissbuden, Bäckereien, Märkte, oder in der Nähe von Schlachthöfen und Lebensmittelverarbeitenden Betrieben aufhalten. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass noch kein Nachweis einer humanen Infektion durch das bei Stadtauben hauptsächlich vorkommenden Stx2f nachgewiesen ist. Die *stx1*-Prävalenz von 2% spricht nicht für ein hohes Risiko des Menschen an einer von Tauben übertragenen STEC-Infektion zu erkranken, kann aber auch nicht ausgeschlossen werden. Wobei wiederum die Schwierigkeit der lückenlosen Aufklärung einer meist alimentären humanen STEC Infektion nicht außer Acht gelassen werden darf. Die Serotypisierung der Tauben STEC wird vermutlich die Gefahrenanalyse vereinfachen.

Eine vierte Fragestellung dieser Arbeit war, ob ein epidemiologischer Zusammenhang von Tauben mit der porcinen Ödemkrankheit hergestellt werden kann.

Schweine nehmen im Rahmen der STEC-Infektionen eine Sonderstellung ein. So wird die Ödemkrankheit der Schweine durch STEC ausgelöst, die das Gen *stx2e* beherbergen (WEINSTEIN et al., 1988). Zu Beginn dieser Arbeit wurde versucht mit dem Nachweis von *stx2e* in Taubenkot mittels Polymerase-Kettenreaktion einen Zusammenhang der Tauben mit der Epidemiologie der porcinen Ödemkrankheit herzustellen. Da diese *Stx2*-Variante ausschließlich bei Schweinen vorkommt und dort die Ödemkrankheit auslöst (Edema Disease) wurden diese in Edema Disease *E. coli* (EDEC) umbenannt (IMBRECHTS et al., 1992). Meist sind frisch abgesetzte, gut genährte Ferkel zwischen drei und fünf Wochen betroffen. Die Tiere zeigen Lid- und Nasenrückenödeme, Durchfall und neurologische Symptome wie Ataxien und Konvulsionen. Typische Serotypen sind O141:K85, O138:K81 und O139:K82, die bei humanen Erkrankungen keine Rolle spielen. In der Literatur sind nur wenige Nachweise einer humanen Erkrankung durch *stx2e* beschrieben (THOMAS et al., 1994; PIERARD et al., 1991). Da die zunächst als *stx2e*-positiven angesprochenen Taubenkotproben im Verlauf dieser Arbeit aufgrund neuerer Erkenntnisse als Träger der neuen *stx2*-Variante *stx2f* eingeordnet wurden, konnten keine Prävalenzen für *stx2e* im Taubenkot ermittelt werden. STEC-Stämme, die Ödemkrankheit auslösen können, besitzen kein Adhäsionsgen *eae*. Sie lösen somit auch keine A/E-Läsionen aus (FRANKE et al., 1995). Die Anheftungsmechanismen im Krankheitsgeschehen der porcinen Ödemkrankheit werden durch das Fimbrienadhäsion F107 gesteuert. Codiert wird das Adhäsion durch *fedA* (IMBERECHTS et al., 1992). Die in dieser Arbeit isolierten *stx2f*-STEC wurden ebenfalls auf das Vorhandensein von *fedA* untersucht, um eine mögliche Verwandtschaft zwischen *stx2e* und *stx2f*-tragenden STEC aufzuzeigen. Es konnte jedoch in keinem Falle nachgewiesen werden. GALLIEN et al. (1994) zeigen, dass eine hohe Korrelation zwischen dem Vorhandensein des *Stx2e* und dem Kolonisierungsfaktor F107 besteht. 82% der isolierten STEC-Stämme aus Schweinen mit Ödemkrankheit beherbergten auch den Adhäsionsfaktor F107. Der Versuch über den Anheftungs-faktor F107 eine Beziehung zu den porcinen STEC Stämmen herzustellen ist in dieser Arbeit nicht gelungen. Um die Verwandtschaftsgrade der Schweine- und Tauben-Stämme zu vergleichen, wäre eine phylogenetische Analyse der entsprechenden STEC nötig.